

RE 000  
0167

REPUBLIQUE FRANCAISE

PCT / IB 00 / 01161  
23.08.00



REC'D 29 AUG 2000  
WIPO PCT

# BREVET D'INVENTION

## CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

### COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le 10 AOUT 2000

Pour le Directeur général de l'Institut  
national de la propriété industrielle  
Le Chef du Département des brevets

Martine PLANCHE

### PRIORITY DOCUMENT

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (

INSTITUT  
NATIONAL DE  
LA PROPRIETE  
INDUSTRIELLE

SIEGE  
26 bis, rue de Saint Petersbourg  
75800 PARIS Cedex 08  
Téléphone : 01 53 04 53 04  
Télécopie : 01 42 93 59 30



26 bis, rue de Saint Pétersbourg  
75800 Paris Cedex 08  
Téléphone : 01 53 04 53 04 Télécopie : 01 42 93 59 30

Réserve à l'INPI

# BREVET D'INVENTION, CERTIFICAT D'UTILITE

Concerne la propriété intellectuelle-Livre VI

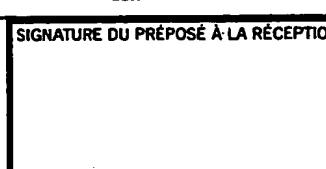
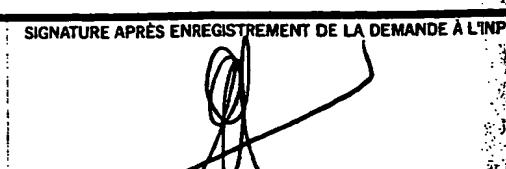
cerfa

N° 55-1328

## REQUETE EN DELIVRANCE

Confirmation d'un dépôt par télécopie

Cet imprimé est à remplir à l'encre noire en lettres capitales

<p>DATE DE REMISE DES PIÈCES <b>1 SEPT 1999</b>            N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL <b>9910970</b>            DÉPARTEMENT DE DÉPÔT <b>75 INPI PARIS</b>            DATE DE DÉPÔT <b>01 SEP. 1999</b></p>		<p>1 NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE            À QUI LA CORRESPONDANCE DOIT ÊTRE ADRESSÉE  <b>BREVATOME</b>  <b>3, rue du Docteur Lancereaux</b>  <b>75008 PARIS</b></p>	
<p>2 DEMANDE Nature du titre de propriété industrielle  <input checked="" type="checkbox"/> brevet d'invention <input type="checkbox"/> demande divisionnaire  <input type="checkbox"/> certificat d'utilité <input type="checkbox"/> transformation d'une demande            de brevet européen   <input type="checkbox"/> différencié <input checked="" type="checkbox"/> immédiat</p>		<p>n° du pouvoir permanent références du correspondant  <b>B 13345/EE</b> 01 53 83 94 00  <b>99-01</b></p>	
<p>Établissement du rapport de recherche            Le demandeur, personne physique, requiert le paiement échelonné de la redevance  <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non</p>		<p><input type="checkbox"/> certificat d'utilité n° _____ date _____</p>	
<p>Titre de l'invention (200 caractères maximum)  <b>PRODUITS RADIPHARMACEUTIQUES ET LEUR PROCEDE DE PREPARATION.</b></p>			
<p>3 DEMANDEUR (S) n° SIREN _____ code APE-NAF _____</p>		<p>Forme juridique</p>	
<p>Nom et prénoms (souligner le nom patronymique) ou dénomination  <b>Cis Bio International</b></p>			
<p>Nationalité (s) <b>Française</b></p>		<p>Pays</p>	
<p>Adresse (s) complète(s)  <b>Route Nationale 306</b>  <b>91400 SACLAY</b></p>		<p><b>FRANCE</b></p>	
<p>En cas d'insuffisance de place, poursuivre sur papier libre <input type="checkbox"/></p>			
<p>4 INVENTEUR (S) Les inventeurs sont les demandeurs <input type="checkbox"/> oui <input checked="" type="checkbox"/> non Si la réponse est non, fournir une désignation séparée</p>			
<p>5 RÉDUCTION DU TAUX DES REDEVANCES <input type="checkbox"/> requise pour la 1ère fois <input type="checkbox"/> requise antérieurement au dépôt : joindre copie de la décision d'admission</p>			
<p>6 DÉCLARATION DE PRIORITÉ OU REQUETE DU BÉNÉFICE DE LA DATE DE DÉPÔT D'UNE DEMANDE ANTÉRIEURE            pays d'origine _____ numéro _____ date de dépôt _____ nature de la demande _____</p>			
<p>7 DIVISIONS antérieures à la présente demande n° _____ date _____ n° _____ date _____</p>			
<p>8 SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE            (nom et qualité du signataire)  <b>M. DES TERMES</b>  <b>422-5/S002</b> </p>		<p>SIGNATURE DU PRÉPOSÉ À LA RÉCEPTION  SIGNATURE APRÈS ENREGISTREMENT DE LA DEMANDE À L'INPI </p>	

## **DOCUMENT COMPORTANT DES MODIFICATIONS**

Un changement apporté à la rédaction des revendications d'origine, sauf si celui-ci découle des dispositions de l'article R.612-36 du code de la Propriété Intellectuelle, est signalé par la mention «R.M.» (revendications modifiées).

ces produits ne doivent pas être toxiques pour l'organisme, ils doivent être stérilisables par exemple par autoclavage ou par irradiation, ils doivent pouvoir être marqués facilement avec un métal radioactif et 5 pouvoir être conditionnés sous forme de trousse de marquage stable.

#### **Art antérieur**

Par exemple, la demande de brevet français FR-A-10 2 273 516, déposée en 1975, par la Société PHARMACIA AKTIEBOLAG, résidant en Suède, décrit l'utilisation de microsphères d'amylopectine réticulée par de l'épichlorhydrine et marqués par un simple mélange avec du <sup>99m</sup>Tc pour la scintigraphie de perfusion pulmonaire. 15 Ces particules présentent plusieurs inconvénients. En effet, seuls les groupements hydroxyles de l'amylopectine utilisée peuvent permettre ce marquage par mélange, et ils ne forment malheureusement que de faibles liaisons avec le technétium et ne permettent 20 pas un marquage stable. De plus, le procédé de préparation décrit utilise beaucoup de solvants et émulsifiants difficiles à éliminer des particules préparées. En outre, le taux de réticulation exact ne peut pas être mesuré exactement ni contrôlé sur ce type 25 de particules.

Par ailleurs, ce document ne décrit pas de trousse qui soit compatible avec une utilisation en routine en médecine nucléaire. En effet, pour une préparation injectable chez l'homme, plusieurs manipulations telles 30 que l'ajonction d'étain au flacon stérile, une centrifugation, une remise en suspension, etc... sont

compatible avec la notion de trousse de marquage précitée et les contraintes de stérilité d'usage.

Bien que la méthode de marquage décrite permette de marquer les particules de manière relativement stable, elle ne permet pas de préparer une trousse de marquage pharmaceutiquement acceptable, notamment car elle contient de l'épichlorhydrine, et facilement utilisable dans un service de médecine nucléaire.

Les microsphères décrites dans ces deux demandes de brevets ne s'adaptent donc pas aux contraintes pharmaceutiques et elles ne sont pas exploitables. Elles n'ont d'ailleurs jamais été utilisées pour la scintigraphie pulmonaire. Ce type de produit a été abandonné depuis.

Les nombreuses recherches effectuées depuis 1975 pour la mise au point de nouveaux produits radiopharmaceutiques, ont porté sur des produits qui sont à base de sérum-albumine et de ses dérivés. Ces produits issus du sang répondent en effet aux contraintes pharmaceutiques et sont utilisables notamment pour la scintigraphie pulmonaire. Ce sont ces produits qui sont utilisés actuellement en médecine nucléaire.

Par exemple, dès 1975, M.A. Davis, dans le document "Radiopharmaceuticals N.Y.", 1975, pages 267 à 281 décrivait des particules radioactives destinées à l'étude de la perfusion pulmonaire. Les particules décrites dans ce document sont des macroagrégats de sérum-albumine radioiodés ( $^{131}\text{I-MAA}$ ) ou des microsphères de sérum-albumine humaine dénaturée marquée au technétium ( $^{99\text{m}}\text{Tc-HAM}$ ). Les microsphères de  $^{99\text{m}}\text{Tc-HAM}$

décrit des 'voies de remplacement des produits radiopharmaceutiques provenant du sang. Il mentionne en particulier l'utilisation de matériaux recombinants, de polymères synthétiques et de polypeptides. Mais, ce document ne mentionne pas de polysaccharides.

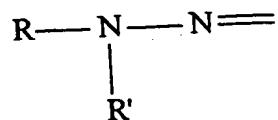
5

**Exposé de l'invention**

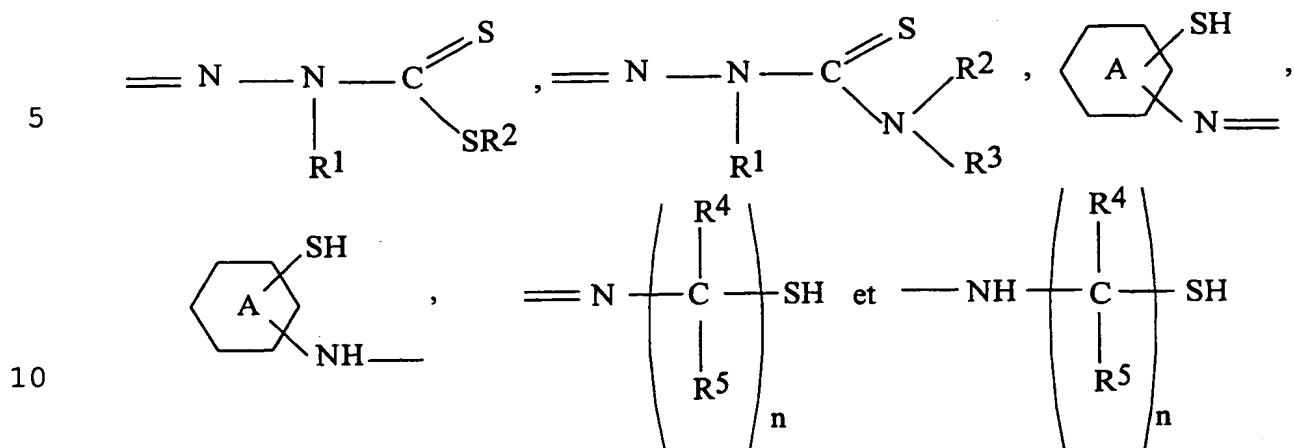
La présente invention a précisément pour but de surmonter les inconvénients précités rencontrés pour les produits de l'art antérieur, en fournissant un produit radiopharmaceutique pouvant être facilement marqué par exemple au  $^{99m}\text{Tc}$ , présentant une très bonne captation pulmonaire telle qu'elle a été mise en évidence par les inventeurs chez le rat, non toxique, facilement biodégradable, facilement stérilisable et conditionnable sous forme de trousse prête au marquage, stable et répondant aux contraintes pharmaceutiques de ce type de produit. Ces avantages et d'autres encore apparaissent dans la description qui suit.

10 20 Le produit radiopharmaceutique de la présente invention est caractérisé en ce qu'il comprend un polysaccharide muni de groupes complexants reliés au polysaccharide par des liaisons de covalence et choisis parmi les groupes de formules  $\text{R}-\text{NH}-$ ,  $\text{R}-\text{N}=$ , et

25



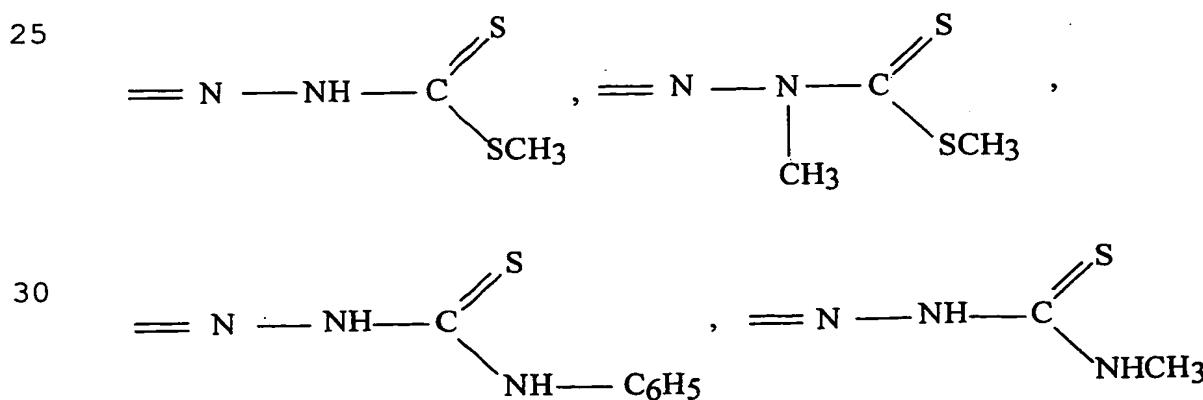
30 dans lesquelles R est un groupe hydrocarboné ou aromatique comportant au moins un atome de soufre, et R' est un atome d'hydrogène ou un groupement alkyle, par exemple méthyle, lesdits groupes complexants



15 dans lesquelles R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup> et R<sup>5</sup> sont indépendamment des atomes d'hydrogène, des groupes hydrocarbonés saturés ou insaturés, des groupes carboxyliques, ou des groupes aromatiques,

A est un noyau aromatique contenant éventuellement un ou plusieurs hétéroatomes, et n est un nombre entier allant de 1 à 5.

Par exemple, ils peuvent être choisis parmi les groupes de formule :



Selon l'invention, le taux de groupes complexants peut être de 0,1 à 50% par rapport aux motifs saccharide du polysaccharide, de préférence de 2 à 15%.

5 Selon l'invention, dans le produit radiopharmaceutique, notamment lorsqu'il est utilisé pour le diagnostic, le métal radioactif peut être le  $^{99m}\text{Tc}$ .

10 Ceci peut être le cas par exemple lorsque le produit radiopharmaceutique est utilisé pour la scintigraphie pulmonaire.

15 Selon l'invention, dans le produit radiopharmaceutique, notamment lorsqu'il est utilisé pour la thérapie, le métal radioactif peut être le rhénium-186 ou 188, le cuivre-64 ou 67, l'yttrium-90, l'erbium-169 ou le samarium-153.

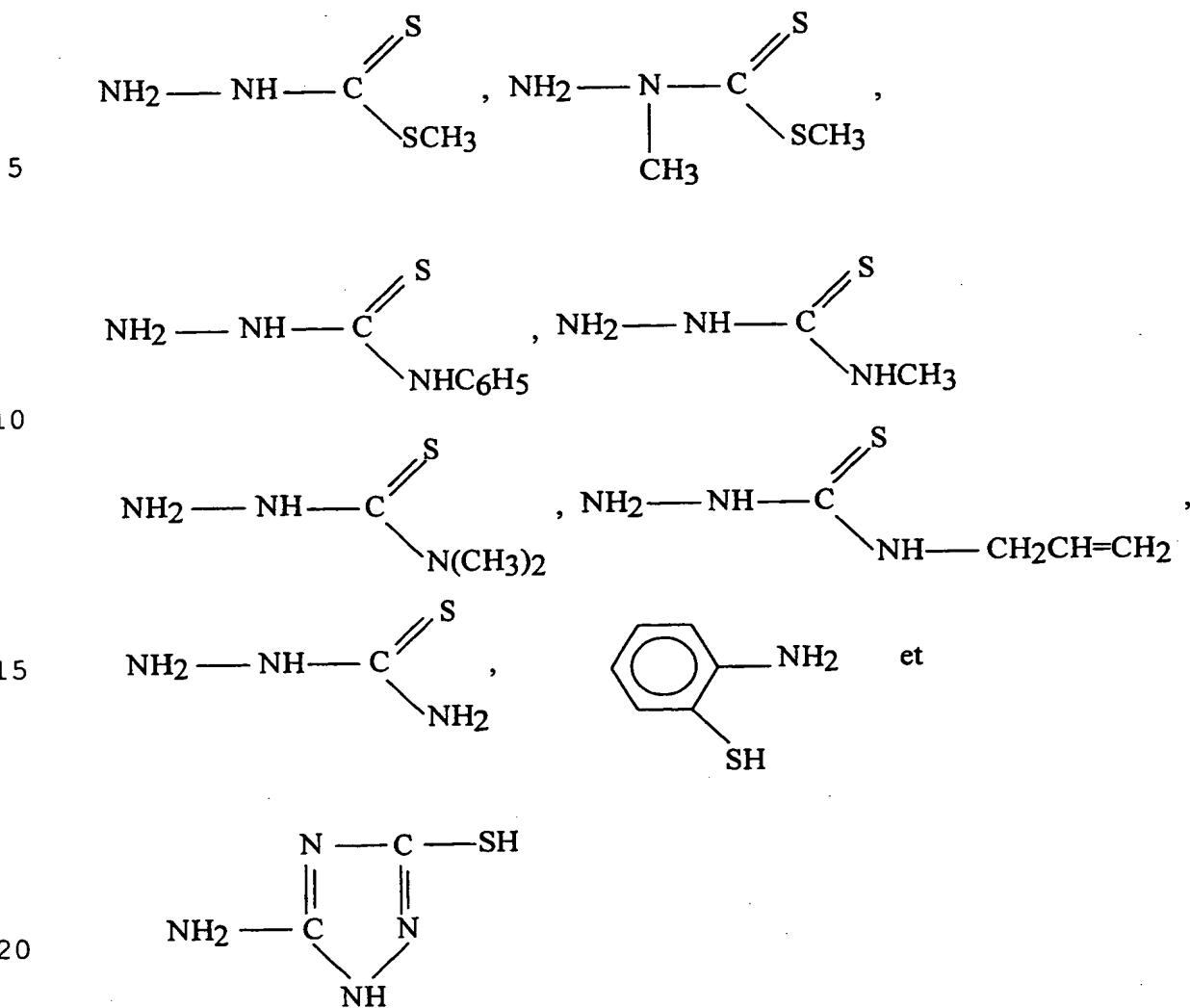
20 Selon l'invention, ledit produit radiopharmaceutique peut être sous la forme d'une suspension de microsphères dans un liquide physiologiquement acceptable ou sous une forme lyophilisée.

La présente invention fournit également un procédé de préparation du produit radiopharmaceutique de l'invention comprenant les étapes suivantes :

25 (a) soumettre un polysaccharide, par exemple tels que ceux précités, à une oxydation ménagée au moyen d'un périodate,

(b) faire réagir le polysaccharide oxydé avec un composé contenant une fonction amine primaire ou

30 hydrazine de formule  $\text{R}-\text{NH}_2$  ou  $\text{R}-\text{N}(\text{R}')-\text{NH}_2$



Selon l'invention, le taux de groupes complexants fixés sur le polysaccharide peut être réglé en contrôlant le taux d'oxydation du polysaccharide dans l'étape a) précitée. Ce taux d'oxydation du polysaccharide peut être par exemple de 10 à 50%. Le taux de groupe complexant peut être par exemple de 2 à 15%.

30 Pour permettre le marquage du polysaccharide selon  
l'invention, par exemple au  $^{99m}\text{Tc}$ , les inventeurs ont

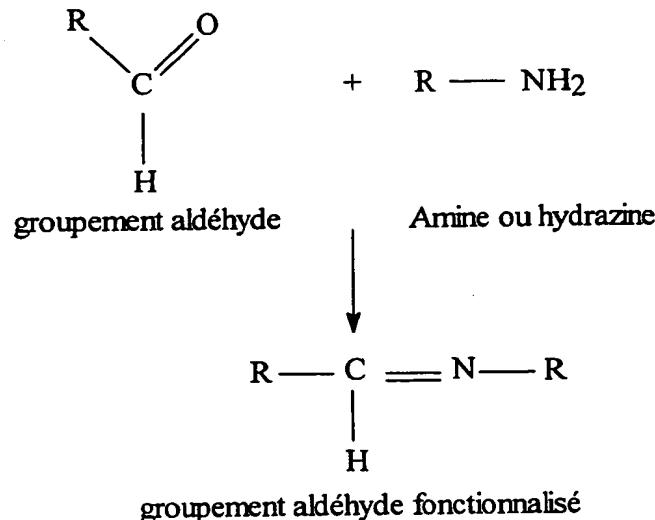
Dans la seconde étape, on fait réagir le polysaccharide oxydé avec une molécule contenant un groupement amine ou hydrazine de formule générale  $\text{RNH}_2$  ou  $\text{RNHNH}_2$  pour former un groupement chelatant susceptible de complexer le technétium. On obtient ainsi un ligand type base de schiff ou thiosemicarbazone.

Cette seconde étape peut être résumée comme suit :

10

15

20



avec :

- $\text{R} = \text{NR}_1(\text{C}=\text{S})\text{SR}_2$  (bases de schiff issues du dithiocarbazate)
- $\text{R} = \text{NR}_1(\text{C}=\text{S})\text{NR}_2\text{R}_3$  (thiosemicarbazones)
- $\text{R} = \text{groupement aromatique}$  (bases de schiff aromatiques)
- $\text{R} = \text{groupement alkyle}$  (bases de schiff alkylque) ; dans ce cas les bases de schiff ne sont pas stables et l'on effectue dans une

clairance pulmonaire peut être modifiée suivant le taux d'oxydation de microparticules de la présente invention utilisé, ce qui n'est pas possible par exemple avec des microsphères d'albumine humaine.

5 Un autre avantage de la présente invention réside dans la simplicité de mise en oeuvre du procédé : les conditions de réaction étant très douces : réactions à température ambiante, en milieu aqueux, rendements quasi quantitatifs. De plus, les réactions de complexation, par exemple, avec le technétium sont quantitatives, elles ont lieu à température ambiante, et sans purification finale ce qui permet de s'adapter aux contraintes de stérilité et de simplicité de préparation nécessaires pour l'utilisation des trousseaux 10 technétiées en milieu hospitalier.

La présente invention fournit également une trousse de diagnostic utilisable par exemple pour la scintigraphie pulmonaire. Cette trousse comprend :

20 un premier flacon contenant un polysaccharide selon  
l'invention, c'est-à-dire muni de groupes  
complexants reliés au polysaccharide par des  
liaisons de covalence et choisis parmi les groupes  
de formules R-NH-, R-N= et  $R-N-N=$   
25 
$$R'$$

30 dans lesquelles R est un groupe hydrocarboné ou aromatique comportant au moins un atome de soufre, et dans laquelle R' est un atome d'hydrogène ou un groupement alkyle tel que méthyl.

**EXEMPLES****Exemple 1**

5        On met en suspension 10 g d'amidon de maïs de la pharmacopée préalablement tamisé entre 10 et 40  $\mu\text{m}$ , contenant environ 10% d'eau, soit 0,055 mole de glucose dans 100 ml d'eau. On ajoute 0,0168 mole de périodate de sodium (0,3 eq) ( $\text{NaIO}_4$ ), soit 3,6 g, dissous dans  
10 100 ml d'eau. La suspension est agitée pendant 18 heures à température ambiante. La solution est filtrée et l'on rince l'amidon oxydé par 5 fois 20 ml d'eau puis 2 fois 50 ml d'acétone. L'amidon est séché sous vide et l'on obtient 10 g d'amidon oxydé à 30% rendement = 100%).

On met en suspension 10 g d'amidon oxydé à 30% dans 60 ml d'un mélange eau/éthanol 2/1 en volume. On ajoute ensuite 0,1 eq. ( $0,1 \times 0,055 \times 2$ ) soit 0,011 mole de S-méthyl dithiocarbazate ( $\text{NH}_2\text{NH}(\text{C}=\text{S})\text{SCH}_3$ )  $M=122$ , soit 1,34 g, dissous dans 10 ml d'éthanol. La suspension est agitée pendant 18 heures à la température ambiante. La solution est ensuite filtrée et l'amidon modifié est lavé par 3 fois 20 ml d'éthanol puis séché sous vide. On obtient ainsi environ 10 g d'amidon modifié. Le  
20 dosage de la poudre par analyse élémentaire donne un contenu en soufre de 5,4%, ce qui correspond à un taux de couplage du S-méthyl dithiocarbazate (DTCZ) de 7% (7 unités dithiocarbazate pour 100 fonctions aldéhydes théoriques soit 14 unités dithiocarbazate pour 100  
25 unités glucose). Le rendement de couplage est donc de  
30

**Exemple 3**Modification de l'amidon

On procède comme pour l'exemple 1 mais on utilise 0,1 eq de périodate lors de la réaction d'oxydation. On 5 obtient un amidon oxydé à 10%.

On procède de même que pour l'exemple 1 pour la réaction de couplage et l'on obtient un amidon oxydé à 10% et couplé au DTCZ à 7%.

Réaction de marque au  $^{99m}\text{Tc}$ 

10 On procède comme pour l'exemple 1. La pureté radiochimique PRC est de 98,8%.

**Exemple 4**

On procède comme pour l'exemple 1 pour obtenir 15 10 g d'amidon oxydé à 30%. On met en suspension 10 g d'amidon oxydé à 30% dans 60 ml d'un mélange eau/éthanol (2/1 en volume). On ajoute ensuite 0,1 eq (0,1x0,055x2), soit 0,011 mole de N-méthyl-S-méthyl 20 dithiocarbazate ( $\text{NH}_2\text{N}(\text{CH}_3)(\text{C}=\text{S})\text{SCH}_3$ , M=136, soit 1,50 g dissous dans 10 ml d'éthanol. La suspension est agitée pendant 18 heures à température ambiante. La solution est ensuite filtrée et l'amidon modifié lavé par 3 fois 20 ml d'éthanol puis séché sous vide. On obtient ainsi environ 10 g d'amidon modifié. Le dosage de la poudre 25 par analyse élémentaire donne un contenu en soufre de 5%, ce qui correspond à un taux de couplage du N-méthyl S-méthyl dithiocarbazate de 6,5% (6,5 unités dithiocarbazate pour 100 fonctions aldéhydes théoriques soit 13 unités dithiocarbazate pour 100 unités 30 glucose). Le rendement de couplage est donc de 65%.

**Exemple 6**Modification de l'amidon

On procède comme pour l'exemple 1 pour obtenir 10 g d'amidon oxydé à 30%. On met en suspension 10 g d'amidon oxydé à 30% dans 60 ml d'un mélange eau/éthanol (2/1 en volume). On ajoute ensuite 0,1 eq (0,1x0,055x2), soit 0,011 mole de 4-méthyl 3-thiosemicarbazide ( $\text{NH}_2\text{NH}(\text{C}=\text{S})\text{NH}(\text{CH}_3)$ ),  $M=105$ , soit 1,15 g dissous dans 10 ml d'éthanol. La suspension est agitée pendant 18 heures à température ambiante. La solution est ensuite filtrée et l'amidon modifié lavé par 3 fois 20 ml d'éthanol puis séché sous vide. On obtient ainsi environ 10 g d'amidon modifié. Le dosage de la poudre par analyse élémentaire donne un contenu en soufre de 2,9% ce qui correspond à un taux de couplage de la 4-méthyl 3-thiosemicarbazone de 7,3% (7,3 unités thiosemicarbazide pour 100 fonctions aldéhydes théoriques, soit 14,6 unités thiosemicarbazone pour 100 unités glucose). Le rendement de couplage est donc de 73%.

Réaction de marquage au  $^{99m}\text{Tc}$ 

On procède comme pour l'exemple 1. La PRC est de 97%.

25 **Exemple 7**Modification de l'amidon

On procède comme pour l'exemple 1 pour obtenir 10 g d'amidon oxydé à 30%. On met en suspension 10 g d'amidon oxydé à 30% dans 60 ml d'un mélange eau/éthanol 2/1. On ajoute ensuite 0,1 eq (0,1x0,055x2) soit 0,011 mole de 4,4-diméthyl 3-thiosemicarbazide

en soufre de 3%, ce qui correspond à un taux de couplage de la 4-allyl 3-thiosemicarbazone de 7,5% (7,5 unités thiosemicarbazide pour 100 fonctions aldéhydes théoriques, soit 15 unités thiosemicarbazone pour 100 unités glucose). Le rendement de couplage est donc de 75%.

#### Réaction de marquage au $^{99m}Tc$

On procède comme pour l'exemple 1. La PRC est de 98%.

10

#### **Exemple 9**

##### Modification de l'amidon

On procède comme pour l'exemple 1 pour obtenir 10 g d'amidon oxydé à 30%. On met en suspension 10 g d'amidon oxydé à 30% dans 60 ml d'un mélange eau/éthanol (2/1 en volume). On ajoute ensuite 0,1 eq (0,1x0,055x2), soit 0,011 mole de 3-thiosemicarbazide  $(NH_2NH)(C=S)NH_2$ ,  $M=91$ , soit 1 g dissous dans 10 ml d'éthanol. La suspension est agitée pendant 18 heures à température ambiante. La solution est ensuite filtrée et l'amidon modifié lavé par 3 fois 20 ml d'éthanol, puis séché sous vide. On obtient ainsi environ 10 g d'amidon modifié. Le dosage de la poudre par analyse élémentaire donne un contenu en soufre de 2,9%, ce qui correspond à un taux de couplage de la 3-thiosemicarbazone de 7,3% (7,3 unités thiosemicarbazide pour 100 fonctions aldéhydes théoriques, soit 14,6 unités thiosemicarbazone pour 100 unités glucose). Le rendement de couplage est donc de 73%.

d'amidon oxydé à 30% dans 60 ml d'un mélange eau/éthanol (2/1 en volume). On ajoute ensuite 0,1 eq (0,1x0,055x2), soit 0,011 mole de 2-mercaptopoéthylamine (ou 2-aminoéthanethiol) ( $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SH}$ ),  $M=91$ , soit 1 g dissous dans 10 ml d'éthanol. La suspension est agitée pendant 18 heures à température ambiante. On ajoute ensuite 0,015 mole de borohydrure de sodium ( $\text{NaBH}_4$ ) afin de réduire la base de schiff formée pour la stabiliser (les bases de schiff non aromatiques n'étant pas stables) et on laisse réagir pendant 1 heure. La solution est ensuite filtrée et l'amidon modifié lavé par 3 fois 20 ml d'éthanol, puis séché sous vide. On obtient ainsi environ 10 g d'amidon modifié. Le dosage de la poudre par analyse élémentaire donne un contenu en soufre de 3,4%, ce qui correspond à un taux de couplage du 2-mercaptopoéthylamine de 8,5% (8,5 unités 2-mercaptopoéthylamine pour 100 fonctions aldéhydes théoriques, soit 17 unités 2-mercaptopoéthylamine pour 100 unités glucose). Le rendement de couplage est donc de 85%.

#### Réaction de marquage au $^{99m}\text{Tc}$

On procède comme pour l'exemple 1. La PRC est de 95%.

#### 25 **Exemple 12**

##### Modification de l'amidon

On procède comme pour l'exemple 1 pour obtenir 10 g d'amidon oxydé à 30%. On met en suspension 10 g d'amidon oxydé à 30% dans 60 ml d'un mélange eau/éthanol (2/1 en volume). On ajoute ensuite 0,1 eq (0,1x0,055x2), soit 0,011 mole de 2-amino 4-

contradiction avec ce qui est décrit dans FR-A-2,273,516.

**Exemple 13**

5 Modification de la cellulose

On procède comme pour l'exemple 1 mais on utilise de la cellulose tamisée entre 10 et 40  $\mu\text{m}$ . On obtient ainsi 10 g de cellulose oxydée à 30% et couplée au DTCZ à 7%.

10 Réaction de marquage au  $^{99\text{m}}\text{Tc}$

On procède comme pour l'exemple 1. La PRC est de 99,1%.

**Exemple 14**

15 Des rats Sprague Dawley pesant environ 200 g sont anesthésiés au pentobarbital sodique, et on leur injecte par voie intraveineuse différentes solutions de microsphères marquées au  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  conformes aux exemples 1 à 9 et 13. Chaque animal reçoit 0,2 ml de solution dans 20 la veine du pénis, soit 0,2 mCi par animal. Les animaux sont ensuite placés sous une gamma caméra et l'on effectue des acquisitions statiques successives pendant 3 heures. On obtient ainsi des images successives après une acquisition de 15 000 coups par image. On définit 25 ensuite manuellement des zones d'intérêt afin d'estimer l'activité présente dans les différents organes 15 minutes après injection. Les résultats sont donnés dans les tableaux I suivants.

Exemple comparatif 2

Dans cet exemple, on n'utilise pas d'amidon naturel mais des microsphères préparées à partir d'amylopectine réticulée par de l'épichlorhydrine comme 5 dans le brevet FR-A-2 273 516.

Préparation de microsphères d'amidon réticulées

On dissout 8 g d'amylopectine de maïs dans 40 ml d'une solution contenant 4 g de NaOH et 0,15 g de borohydrure de sodium. On laisse l'amylopectine se 10 dissoudre pendant 24 heures. On prépare ensuite une émulsion en agitant à 800 tours/min 60 ml de paraffine fluide et 1,6 g de lécithine de soja dissoute dans 4 ml d'hexane. On ajoute ensuite la phase aqueuse contenant 15 l'amylopectine puis on ajoute 3,2 ml d'épichlorhydrine. L'émulsion est chauffée à 55°C pendant 4 heures puis 20 laissée sous agitation pendant une nuit. Les microsphères obtenues de taille d'environ 50 µm sont lavées par 3 fois 250 ml d'acétone, séchées puis lyophilisées.

Marquage au <sup>99m</sup>Tc

On procède comme dans l'exemple 1 mais en utilisant 1 mg de SnCl<sub>2</sub>, 2H<sub>2</sub>O. La PCR est de 90%.

Modification de l'amidon

On procède comme pour l'exemple 1 mais on utilise 25 10 g de microsphères d'amylopectine réticulées par l'épichlorhydrine préparées précédemment. On obtient ainsi 10 g de microsphères d'amylopectine oxydées à 30% et couplées à 7% au DTCZ.

Réaction de marquage au <sup>99m</sup>Tc

30 On procède comme dans l'exemple 1. La PRC est de 99%.

### Stérilisation des microsphères

10 g de microsphères sont introduites dans un flacon serti puis irradiées par une source de Cobalt 60. Les microsphères reçoivent une dose totale de 5 rayonnement gamma de 25 kGy pendant 20 heures.

### Préparation des trousse

On introduit de façon stérile 200 mg de microsphères stérilisées dans un réacteur contenant 20 ml de NaCl 9/1000. La solution est désaérée par un 10 bullage d'azote et l'on ajoute 400  $\mu$ l d'une solution stérile de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  à 0,5 mg/ml en HCl 0,1N. On répartit 1 ml de solution dans 20 flacons qui sont ensuite lyophilisés et placés sous atmosphère d'azote.

Chaque flacon contient donc :

15            10 mg de microsphères modifiées  
               10  $\mu$ g de  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$   
               9 mg de NaCl

### Réaction de marquage au $^{99m}\text{Tc}$

On ajoute 5 ml de solution de  $\text{TcO}_4^-$  (5 mCi) à un 20 flacon sous forme lyophilisée et on laisser réagir pendant 15 minutes.

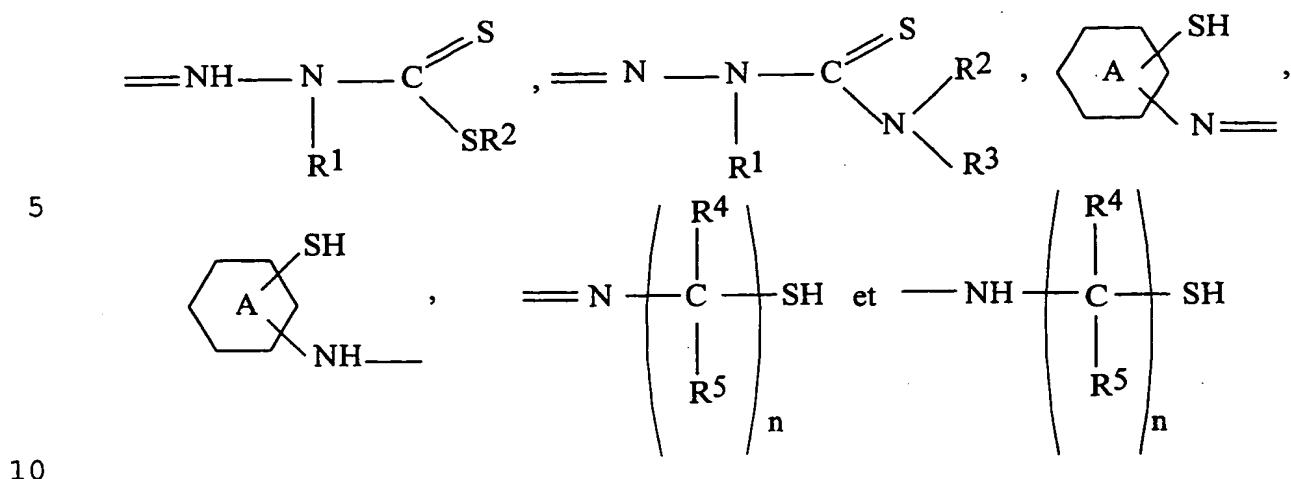
On procède comme dans l'exemple 1. La PCR est de 98,7%.

### Essai de stabilité des trousse

25            On stocke des trousse de marquage préparées comme précédemment à différentes températures et on teste la réaction de marquage au  $^{99m}\text{Tc}$  afin d'évaluer leur stabilité. On obtient les résultats donnés dans le tableau III suivant :

On observe donc une très bonne captation pulmonaire ainsi qu'une faible captation dans les autres organes pour les microsphères d'amidon naturel ainsi que les microsphères à base d'amidon réticulées.

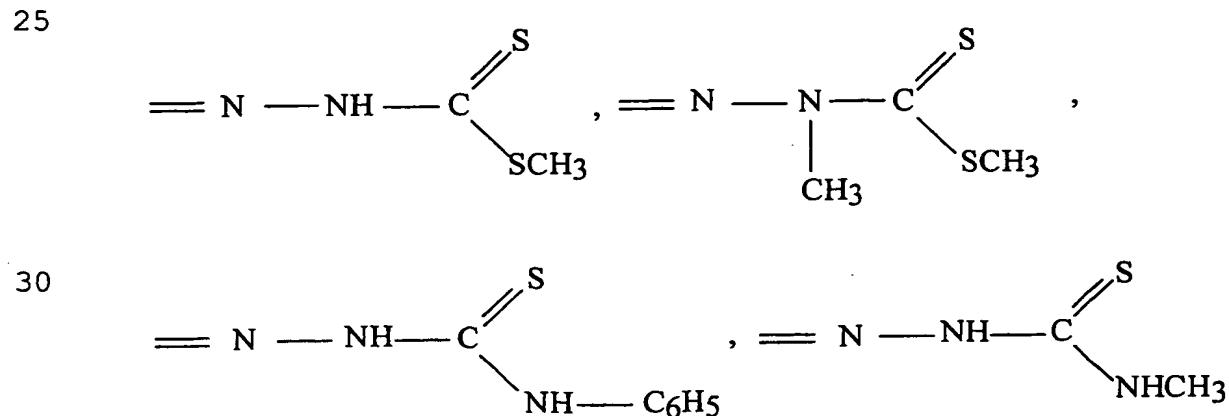
5 Le produit stérile et préparé sous forme de trousses semble donc tout à fait adapté à son utilisation comme radiopharmaceutique pour la perfusion pulmonaire et substituant de l'albumine, et pour la radiothérapie.



dans lesquelles  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$  et  $R^5$  sont indépendamment des atomes d'hydrogène, des groupes hydrocarbonés saturés ou insaturés, des groupes carboxyliques, ou des 15 groupes aromatiques,


 est un noyau aromatique contenant éventuellement un ou plusieurs hétéroatomes, et  $n$  est un nombre entier allant de 1 à 5.  
 20

4. Produit radiopharmaceutique selon la revendication 3, dans lequel les groupes complexants sont choisis parmi les groupes de formule :



6. Produit radiopharmaceutique selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, dans lequel les microparticules ont une dimension de 0,01 à 100  $\mu\text{m}$ .

5 7. Produit radiopharmaceutique selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, dans lequel le taux de groupes complexants est de 0,1 à 50% par rapport aux motifs saccharide du polysaccharide.

10 8. Produit radiopharmaceutique pour le diagnostic selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, dans lequel le métal radioactif est  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ .

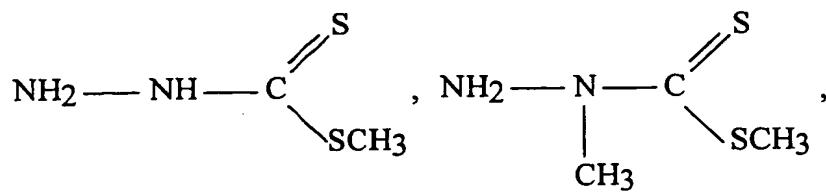
15 9. Produit radiopharmaceutique pour la thérapie selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, dans lequel le métal radioactif est le rhénium-186 ou 188, le cuivre-64 ou 67, l'yttrium 90, l'erbium 169, ou le samarium-153.

20 10. Produit radiopharmaceutique selon la revendication 8 pour la scintigraphie pulmonaire.

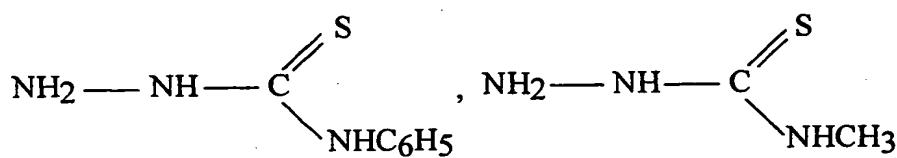
25 11. Produit radiopharmaceutique selon l'une quelconque des revendications 1 à 10 sous la forme d'une suspension de microsphères dans un liquide physiologiquement acceptable ou sous une forme lyophilisée.

30 12. Procédé de préparation d'un produit radiopharmaceutique selon l'une quelconque des

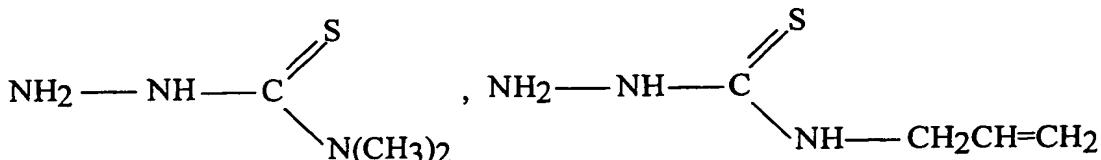
40



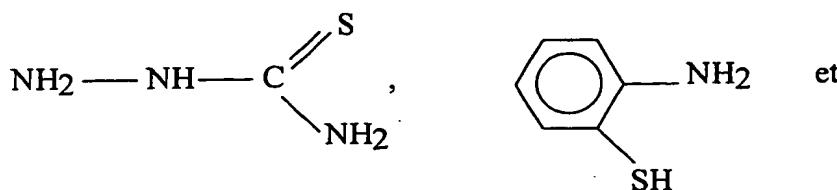
5



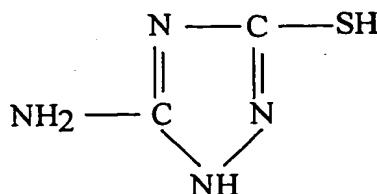
10



15



20



25

15. Procédé selon l'une quelconque des revendications 12 à 14, dans lequel on règle le taux de groupes complexants fixés sur le polysaccharide en contrôlant le taux d'oxydation du polysaccharide dans l'étape a).

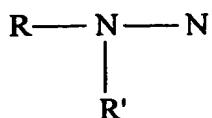
30

21. Trousse selon la revendication 19 ou 20 comprenant en outre un deuxième flacon contenant du chlorure d'étain sous forme lyophilisée.

5 22. Trousse selon la revendication 20, dans laquelle le polysaccharide étant sous forme de microparticules lyophilisées dans le premier flacon, ledit premier flacon comprend en outre du chlorure d'étain lyophilisé.

**REVENDICATIONS**

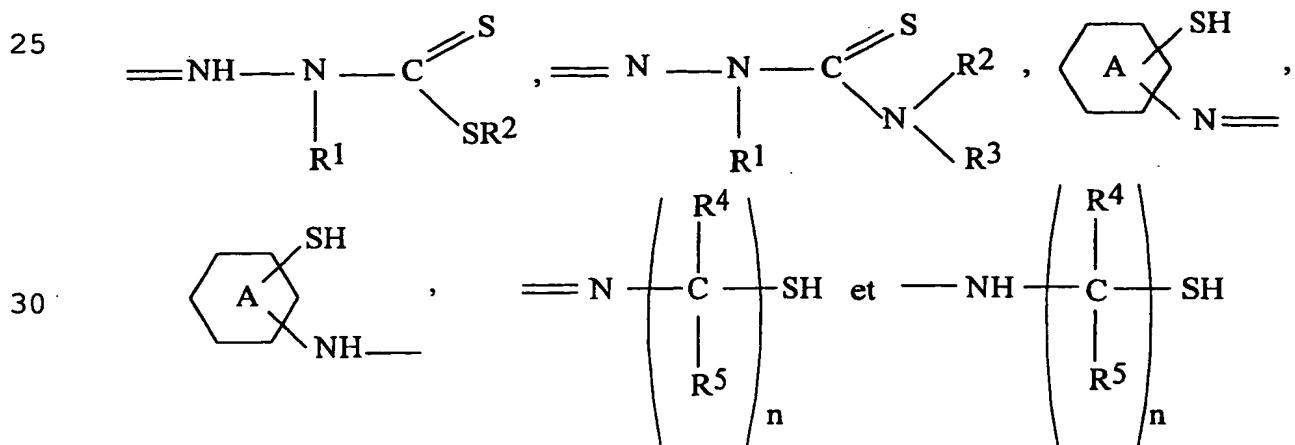
1. Produit radiopharmaceutique comprenant un polysaccharide muni de groupes complexants reliés au 5 polysaccharide par des liaisons de covalence et choisis parmi les groupes de formules R-NH-, R-N=, et



10 dans lesquelles R est un groupe hydrocarboné ou aromatique comportant au moins un atome de soufre, et R' est un atome d'hydrogène ou un groupement alkyle ou méthyle, lesdits groupes complexants formant avec un métal radioactif choisi parmi le technétium, le 15 rhénium, le cuivre, l'yttrium, l'erbium et le samarium un complexe de type chélate,

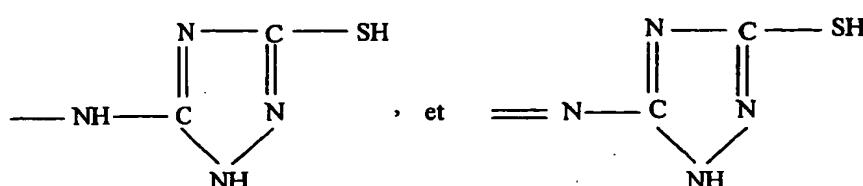
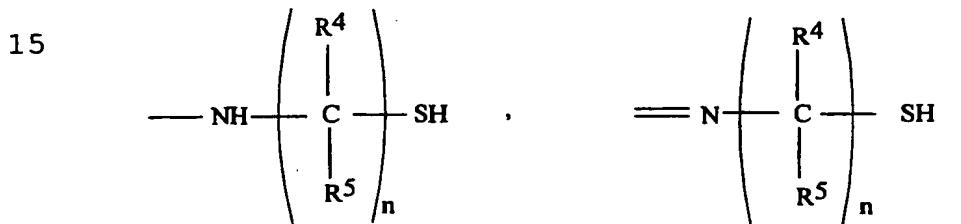
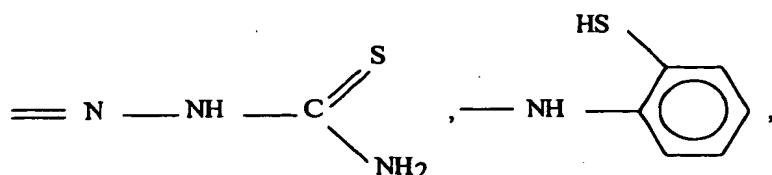
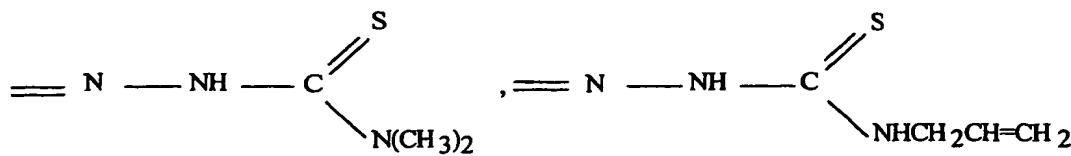
dans lequel le polysaccharide est sous forme de microparticules.

20 2. Produit radiopharmaceutique selon la revendication 1 dans lequel les groupes complexants sont choisis parmi les groupes de formules :



Documents reçus  
le : 20.07.88  
Non examinés par  
l'I.N.P.I.

39



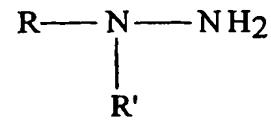
25

4. Produit radiopharmaceutique selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, dans lequel le polysaccharide est choisi parmi l'amidon naturel, la 30 cellulose et l'amylopectine réticulée.

11. Procédé de préparation d'un produit radiopharmaceutique selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, qui comprend les étapes suivantes :

5 (a) soumettre un polysaccharide à une oxydation ménagée au moyen d'un périodate,

(b) faire réagir le polysaccharide oxydé avec un composé contenant une fonction amine primaire ou hydrazine de formule  $R-NH_2$  ou



10

15

dans laquelle R est un groupe hydrocarboné ou aromatique comportant au moins un atome de soufre, pour lier de façon covalente au polysaccharide des groupes complexants les métaux de formule  $R-NH-$ ,  $R-N=$  ou  $R-NH-N=$ , et  $R'$  est un atome d'hydrogène ou un groupement alkyle ou méthyle,

20

(c) faire réagir le polysaccharide comportant les groupes complexants avec un sel d'un métal radioactif choisi parmi le technétium, le rhénium, le cuivre, l'yttrium, l'erbium et le samarium.

25

12. Procédé selon la revendication 11, dans lequel le composé contenant une fonction amine primaire répond à la formule  $NH_2-(CH_2)_n-SH$  avec n étant un nombre entier de 1 à 5, et qui comprend une étape complémentaire de réduction de ce composé par du borohydrure de sodium entre les étapes b) et c).

contrôlant le taux d'oxydation du polysaccharide dans l'étape a).

15. Procédé selon la revendication 14, dans lequel  
5 le taux d'oxydation du polysaccharide est de 10 à 50%.

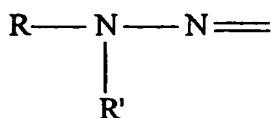
16. Procédé selon la revendication 14, dans lequel  
le taux de groupes complexants est de 2 à 15%.

10 17. Procédé selon l'une quelconque des revendications 10 à 16, dans lequel l'étape c) consiste à mettre en contact les microsphères de polysaccharide comportant les groupes complexants avec une solution de pertechnétate  $^{99m}\text{TcO}_4^-$  en présence d'un agent réducteur.

15

18. Trousse de diagnostic utilisable pour la scintigraphie pulmonaire qui comprend :

20 un premier flacon contenant un polysaccharide muni de groupes complexants reliés audit polysaccharide par des liaisons de covalence et choisis parmi les groupes de formules R-NH-, R-N= et



25 dans lesquelles R est un groupe hydrocarboné ou aromatique comportant au moins un atome de soufre, et dans laquelle R' est un atome d'hydrogène ou un groupement alkyle ou méthyle,

30 dans laquelle le polysaccharide est sous forme de microparticules lyophilisées ou en suspension dans un liquide pharmaceutiquement acceptable.